第 38 卷第 10 期
2018 年 5 月

生 态 学 报
ACTA ECOLOGICA SINICA

Vol.38, No.10
May, 2018

DOI: 10.5846/stxb201612312720
郭安琪,周瑞莲,宋玉,马会雷.刈割后黑麦草生理保护作用对其补偿性生长的影响.生态学报,2018,38(10):3495-3503.
Guo A Q, Zhou R L, Song Y, Ma H L. Relationship between physiological protection mechanisms and the compensatory growth of *Lolium perenne* L. at different cutting treatment levels. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(10): 3495-3503.

刈割后黑麦草生理保护作用对其补偿性生长的影响

郭安琪,周瑞莲*,宋 玉,马会雷
鲁东大学生命科学学院,烟台 264025

摘要:通过对黑麦草(*Lolium perenne* L)在轻度、中度、重度、全割刈割处理 6 d 和 12 d 后,残留叶片和叶片再生部分生长速率,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活力,丙二醛、可溶性糖、脯氨酸含量的分析以揭示在刈割胁迫后叶片抗氧护酶活力和渗透调节物含量与其补偿性生长的关系,以及牧草耐刈性的生理调控机理。结果表明,轻度和中度及全割后叶片生长速率均高于对照,重度刈割低于对照。全割后叶片补偿性生长最明显、轻度和中度次之,重度刈割无补偿性生长。对照黑麦草叶片各部位抗氧化酶和渗透调节物含量不同,叶片顶部 MDA 含量较高,伴随着较高的 SOD、CAT 活力和较高的脯氨酸含量;叶片基部 MDA 含量最低,SOD、CAT 活力及脯氨酸含量也较低。与对照相比,不同强度刈割 6 d 黑麦草再生叶和叶片平均 MDA 含量、SOD 和 CAT 活力、可溶性糖和脯氨酸含量均较低。而不同强度刈割 12 d,黑麦草再生叶和叶片平均 MDA 含量仍较低,但 SOD 和 CAT 活力增高,脯氨酸含量增加,POD 活力和可溶性糖含量低于对照。这表明刈割在减少了叶面积,降低光合能力的同时,刈割伤害胁迫启动了牧草补偿性生长使残留叶片快速生长,而且残留叶片面积与其补偿生长速率成正相关。另外,虽然不同强度刈割下叶片补偿性生长速率不同,但不同强度刈割(12 d)均激活残留叶片抗氧化保护酶系统和促进脯氨酸积累。在补偿生长过程中,CAT 和 SOD 能及时清除残留叶片中积累的氧自由基,维持较低的膜脂过氧化和细胞膜完整性,积累的脯氨酸能维护细胞水分平衡。因此,抗氧化酶(SOD 和 CAT)和渗透调节物(脯氨酸)在黑麦草刈割后受伤部位快速自愈及残留叶片快速补偿生长中起重要生理保护作用。

关键词:黑麦草;抗氧化酶;渗透调节物;补偿性生长;刈割

Relationship between physiological protection mechanisms and the compensatory growth of *Lolium perenne* L. at different cutting treatment levels

GUO Anqi, ZHOU Ruilian*, SONG Yu, MA Huilei
School of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China

Abstract: Grazing and cutting of forages can promote its compensatory growth, which plays an important role in maintaining growth, and resistance to mowing, grazing, trampling. However, little is known about the physiological mechanisms involved in the compensatory growth of grasses. In this study, the growth rate, superoxide dismutase (SOD), peroxide (POD), and catalase (CAT) activities; and soluble sugar, proline, and malondialdehyde (MDA) contents were investigated in the leaves of *Lolium perenne* L. Light, moderate, severe, and whole cutting levels were used to determine the relationships between antioxidant enzyme activities, osmoregulation and compensatory growth, and the physiological mechanisms of compensatory growth of grasses after cutting. The results showed that the growth rate was higher in the leaves after cutting at the light, moderate, and whole cutting levels, but was lower in the leaves at the severe cutting level than that of control. Compared to that of the control, *L. perenne* showed significant compensatory growth under light, moderate, and whole cutting levels, and no compensatory growth occurred under severe cutting levels. Normally, in *L. perenne*, the top

基金项目:国家自然科学基金项目(3177072);烟台市科技发展计划(2015ZH089)
收稿日期:2016-12-31; **网络出版日期**:2018-02-01
* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhour726@163.com

of the leaves had higher MDA contents, SOD, and CAT activities, and the base of the leaves had lower MDA, proline contents, SOD, and CAT activities. Compared to the control, at 6 days after different cutting levels, the regrowth of *L. perenne* leaves had lower MDA, soluble sugar, and proline contents, and lower SOD, and CAT activities. Whereas, at 12 days after different cutting levels, the regrowth of *L. perenne* leaves still had lower MDA contents, but higher SOD, CAT activities, and proline content. This indicated that cutting decreased the leaf area, reduced the photosynthetic energy availability, and enhanced the compensatory growth function of residual leaves. Therefore, cutting damage was an internal factor resulting in compensatory growth. The compensatory growth rate was correlated positively with the residual leaf size. In addition, although there were differences in the compensatory growth rate in the residual leaves among different cutting levels, the different cutting levels all activated antioxidant enzymes and enhanced proline accumulation. During the compensatory growth of residual leaves, SOD and CAT could scavenge active oxygen free radicals produced during photosynthetic metabolism, inhibit membrane lipid peroxidation, maintain the balance of oxygen free radicals metabolism; and accumulated proline could maintain water balance. Therefore, antioxidant enzymes and osmoregulation play an important role in physiological protection, including photosynthesis and compensatory growth, during rapid self-healing after cutting of residual leaves in *L. perenne*.

Key Words: *Lolium perenne* L.; antioxidant enzymes; osmoregulation; compensatory growth; different cutting treatments

耐刈性是多年生牧草经受人工刈割胁迫后自身恢复保护的一种特性[1],也是人们可以定时刈割收获牧草进行草地畜牧业生产和园林绿化建设的根本[2-3]。因此,牧草的耐刈性在园林、草坪、畜牧业发展上起重要作用。

一些研究发现,牧草的耐刈性与刈割后牧草补偿性生长有关[4-5]。研究发现,适度刈割不仅可提高牧草叶片光能转化率和光合速率(Pn)[6-7],还可提高牧草种子产量和饲草产量[8-9]。并认为,牧草的再生实质上是组织和器官的重建过程,刈割引发牧草碳同化能力增强形成的补偿性光合作用可能是刈割后牧草生长加速的关键[5-6,10]。目前国内对刈割的主要研究方向多集中在刈割强度、方式、时期以及施肥对牧草产量和品质的影响[5-6,9,11]。对牧草而言,刈割行为是对叶片造成机械伤害,它可引发刈割部位的细胞液外渗和植物体水分平衡失衡。但牧草为何能在刈割胁迫伤害下还可进行补偿光合作用和补偿性,其适应刈割胁迫的生理调控机理目前尚不清楚。

关于牧草对逆境胁迫的适应机理研究较多。研究发现,在低温[12]、干旱[13]、盐[14]胁迫下,牧草叶片中抗氧化酶活力和丙二醛(MDA)含量增高。一些高寒山区的多年生牧草秋季冷适应过程中,根中抗氧化酶活力增加[15]。逆境条件下,牧草细胞中维持较高的抗氧化酶活力在抑制细胞膜脂过氧化、维护氧自由基代谢平衡和细胞膜的完整性上起重要作用。另外,研究还发现在干旱、低温和盐胁迫中牧草叶片中还积累渗透调节物(脯氨酸、甜菜碱、可溶性糖等),它们在提高细胞渗透压和维护细胞持水力及水分代谢平衡上起作用[15-16]。而且,逆境条件下牧草抗逆性与抗氧化酶活力和渗透调节物含量正相关。在干旱、寒冷、高温、盐胁迫下抗逆性强的植物可通过提高抗氧化酶防御体系活力和渗透调节能力提高抗逆性[13-16]。然而,刈割胁迫后牧草在受伤害情况下的补偿光合作用和补偿性生长过程否与细胞具有较高的抗氧化能力有关;抗氧化酶是否参与了细胞抑制膜脂过氧化;刈割后叶片失水情况下渗透调节物是否参与了维护细胞的水分代谢平衡,关于这些问题目前尚不清楚。

黑麦草(*Lolium perenne* L)为普遍引种栽培的优良牧草。对该植物研究发现,刈割可明显引发植株补偿性生长[5,9,17-18]。刈割后黑麦草残茬中碳水化合物对再生起关键作用[19]。刈割可显著提高其干草产量和蛋白质产量[9]。刈割后造成草地冠层光环境变化与黑麦草补偿性生长密切相关,而且补偿能力取决于刈割后剩余叶片的光合效率[5]。人们大多关注于刈割后残存叶片中物质和能量转化与叶片再生关系的研究,而对残留叶片中抗逆生理变化研究较少。另外,研究结果通常是对整个残存叶片的分析得来。由于黑麦草为禾本科

植物在刈割放牧中通常是上部叶片被摘除,留下的下部叶片成为牧草恢复生长的关键部位,那么留下的叶片内发生了哪些生理变化维持着牧草的补偿性生长呢? 刈割部位和非刈割部位在抗逆生理调控上是否存在差异? 而这一问题在大多数同类研究中较少涉及。

本研究以人工种植的黑麦草草坪绿化带为试验地,以黑麦草为实验材料。在秋季气温凉爽适宜牧草生长的时间进行了刈割处理试验。通过对牧草刈割处理生长的第 6 天和第 12 天黑麦草叶片不同部位抗氧化酶活力、膜脂过氧化产物、渗透调节物含量的分析以揭示刈割胁迫后叶片抗氧护酶活力和调节物含量变化与牧草补偿性生长的关系,及在牧草补偿性生长中的生理保护作用,进一步了解牧草耐刈性的生理调控机理。为牧草的抗逆育种和草地科学管理提供理论指导。

1　材料与方法

1.1　试验地概况

试验地位于烟台市鲁东大学校园内绿化带上。烟台位于 119°34′—121°57′E, 36°16′—38°23′ N。属于温带季风气候,年平均降水量 651.9 mm,主要集中在 7—8 月,占年降雨量的 49%;年平均气温 11.8 ℃,最热月为 8 月(24.6 ℃),历年极端最高气温 38.4 ℃,土壤 pH 值为 4.22—6.79。土壤为棕壤土。

1.2　试验处理

鲁东大学校园黑麦草绿化带建植于 2010 年,在校园林工的管理下生长良好,处于营养生长阶段。首先,在校绿化带上选择生长均匀、健壮、杂草少的黑麦草地块为试验地。然后将试验地划分为 10 块用于 5 个处理:即对照、轻度刈割、中度刈割、重度刈割、全割,每一地块约 1.5 m ×1.5 m,每一处理重复 2 次,处理地块按全部刈割、重度、中度、轻度、对照依次排列。黑麦草植株高度为 30 cm,将植株叶片从顶部到底部划分为 4 段:顶部(30—22 cm)、中上部(22—15 cm)、中下部(15—7 cm)、基部(7—0 cm)。在每一个处理地块上,插 5 个 35 cm 长的竹棍,在竹棍高 22 cm 处、15 cm 处、7 cm 处、0 cm 处(基部)分别用记号笔标记。轻度、中度、重度、全部刈割处理就是分别将植株顶部(在 22 cm 处)、中上部以上(在 15 cm 处)、中下部以上(7 cm 处)、基部以上(0 cm 处)剪除,不刈割为对照。同时各刈割处理中竹棍上的标记用于后期生长速率测量起始点。刈割后每两天测定一次株高为生长速率。

1.3　试验取材

为了能更详细了解刈割伤害对黑麦草残留叶片不同部位的影响,试验分别对不同强度刈割后残留叶片各段及再生叶进行了取样和抗逆生理指标的测定。取样是在刈割后第 6 天和第 12 天后的 10:00 进行。将植株顶部、中上部、中下部、基部各段分别记作①、②、③、④。取样时首先将黑麦草叶片捋直,按竹棍上标记的刈割部位,首先将超过原定刈割高度部分剪下,记为再生叶片;接着将剩余部位(残留叶片)分别按植株相应部位剪下各段。将剪下的叶片快速包裹放到液氮中固定,带回实验室保存在超低温冰箱中,用于抗氧化酶活性、渗透调节物含量、丙二醛含量的测定。取样是在同一刈割处理的两个地块上分别进行,重复两次,各生理指标的测定重复 5 次以上。

1.4　试验方法

生长速率采用测量法,在刈割后每两天用量尺测定一次株高。

酶液提取是在 4 ℃条件下进行的,准确称取 1 g 液氮固定的叶片于预冷研钵中,加入酶提取液(pH 值=7.8磷酸缓冲液),冰浴上研磨成匀浆,在 15000 r/min 4 ℃条件下离心 15 min,上清液用于抗氧化酶活力和脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白质和 MDA 含量的测定。

采用愈创木酚法测定 POD 活性[20];采用氮蓝四唑(NBT)光还原法测定 SOD 活性[21];采用过氧化氢-碘量法测定 CAT 活性[22]。采用茚三酮比色法测定游离脯氨酸含量;采用蒽酮法测定可溶性糖含量;采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白质含量;采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量。

1.5　数据处理

实验数据采用 3 个以上重复的平均值±标准差(mean±SD),用 SPSS 11.5 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同强度刈割下黑麦草叶片生长速率比较

不同强度刈割后,经轻度和中度刈割的牧草生长速率较高,在 12 d 的生长中叶片净生长量(株高)分别比对照增加了 46.3% 和 65.7%,但重度刈割却降低牧草的生长速率(图 1)。然而,全割后牧草叶片生长量较对照增加了 289%,生长速率远高于轻度和中度刈割。结果表明,刈割后牧草表明出明显的补偿性生长。

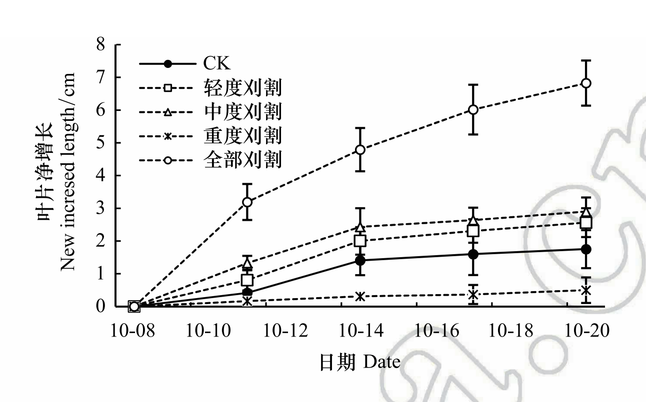


图 1 不同强度刈割后不同时间黑麦草叶片净生长量比较

Fig.1 Comparison of net growth production of leaves of *Lolium perenne* L with different cutting intensities during growth

2.2 不同强度刈割下黑麦草残留叶片和再生叶片膜脂过氧化产物(MDA)比较

正常生长情况下,黑麦草叶片 MDA 含量在叶片上部较高,下部就较低,但差异不显著(表 1)。刈割处理 6 d、12 d 后,对照黑麦草叶片各部位丙二醛(MDA)含量变化不明显。表中各刈割处理中各部位均表示刈割 6 d 和 12 d 后再生叶部分,也是刈割伤害部位。结果表明,不同程度刈割 6 d 和 12 d 后,刈割部位叶片在再生过程中叶内 MDA 含量均低于对照,并与对照差异显著($P < 0.05$)。与对照相比,不同强度刈割 6 d 和 12 d,整个叶片平均 MDA 含量随刈割强度的增加而降低,适度刈割下降 9%,高强度刈割(重度、全刈割)分别下降 31.8%、13.6%。刈割处理并未增加细胞内膜脂过氧化水平。该结果与何树斌等对紫花苜蓿的研究结果一致[8]。

表 1 不同强度刈割对黑麦草叶片 MDA 含量的影响/(μmol/g FW)

Table 1 The effect of different cutting intensities on MDA content in the leaves of *Lolium perenne* L.

部位 Section	对照 CK		轻度刈割 LC		中度刈割 MC		重度刈割 SC		全部刈割 WC	
	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d
顶部 Top	2.3±0.1a	2.3±0.0a	2.1 * ±0.2b	1.8 * ±0.0b						
中上部 Upper part	2.3±0.1a	2.1±0.2a	2.2±0.1ab	2.1±0.1a	2.1 * ±0.2b	2.0 * ±0.2a				
中下部 lower part	2.1±0.1a	2.0±0.1a	2.2±0.1a	2.2±0.0a	2.3±0.2a	2.1±0.1a	1.6 * ±0.0b	1.6 * ±0.0b		
基部 Base	2.1±0.2a	2.2±0.1a	1.5±0.2c	2.2±0.1a	1.7±0.0b	2.0±0.0b	1.4±0.1c	1.5±0.0c	1.9 * ±0.1ab	1.5 * ±0.2c
平均 Average	2.2±0.1a	2.2±0.1a	2.0±0.3a	2.1±0.2a	2.0±0.3a	2.0±0.1a	1.5±0.1b	1.5±0.1b	1.9±0.1ab	1.5±0.2b

数字上的“ * ”表示再生部分,下同;同一时间不同刈割强度处理间不同字母表示差异显著($P < 0.05$);LC:轻度刈割, Light-cutting; MC:中度刈割,Moderate-cutting; SC:重度刈割,Severe-cutting; WC:全部刈割,Whole-cutting;FW: 干重

2.3 不同强度刈割下黑麦草残留叶片和再生叶片抗氧化酶活力比较

对照叶片的 SOD 活力从叶片基部到顶端趋于增加,其中顶端 SOD 酶活力最高(表 2)。与对照相比,不同强度刈割后 6 d,除了轻度刈割,中部、重度、全部刈割后,整个叶片平均 SOD 活力趋于下降,其中重度刈割下降最多,较对照低 27.0%。刈割后 12 d,适度刈割(轻度和中度刈割)叶片平均 SOD 活力降低,但高强度刈割(重度和全割)叶片平均 SOD 酶活力高于对照,分别增高 30.8% 和 8.5%。在刈割 6 d 再生叶中(各种刈割处理的各部位)SOD 活力均低于对照相应部位,而处理 12 d,再生叶 SOD 活力高于对照,尤其是中度、重度、全部刈割后再生叶中 SOD 活力分别较对照增高 13.1%、54.9%、116.7%。结果表明,刈割后受刈割伤害部位 SOD 活力增加显著。

对照黑麦草叶片 POD 活力从叶片基部到顶端逐渐下降,在叶片基部 POD 活力最大(表 3)。与对照相比,各刈割处理叶片残茬平均 POD 活力在刈割 6 d,均有不同程度的上升。轻度、中度、重度、全部刈割 6 d 后,叶片平均 POD 活力分别较对照增高 18.3%、24.5%、10.1% 和 30.9%。刈割 12 d 后,除了轻度刈割外,中度、重度刈割和全割叶片残茬平均 POD 活力较对照的低。在刈割 6 d 后,轻度和中度刈割使顶部叶片再生部

分 POD 活力增加,而重度和全割处理顶部叶片再生部分 POD 活力下降。刈割 12 d 后,不同强度刈割处理的叶片再生部分中 POD 活力均降低,如,中度、重度叶片再生部分和全割新生叶 POD 活力分别较对照下降 25.6%、41.7%、40.1%。不同刈割处理后顶部叶片再生部分 POD 活力与对照相应部位差异显著($P< 0.05$)。

表 2　不同强度刈割对黑麦草叶过氧化物歧化酶(SOD)活力的影响/(U FW^{-1} h^{-1})

Table 2　The effect of different cutting intensities on SOD activity in the leaves of *Lolium perenne* L.

部位 Section	对照 CK		轻度刈割 LC		中度刈割 MC		重度刈割 SC		全部刈割 WC	
	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d
顶部 Top	31.3±4.7a	38.9±1.4a	26.6 * ±5.9b	23.9 * ±0.3b						
中上部 Upper part	23.2±3.4b	29.7±0.7b	29.8±2.9a	20.9±1.6c	20.2 * ±2.6b	33.6 * ±0.4a				
中下部 lower part	24.1±2.4ab	27.5±3.5b	21.6±4.7a	18.2±2.4c	27.6±3.5a	24.8±0.6b	23.4 * ±3.9a	42.6 * ±2.2a		
基部 Base	19.3±2.2c	13.8±2.5c	31.6±2.8a	18.0±0.6b	14.3±3.0d	18.8±1.4b	12.4±8.3d	29.6±1.2a	23.5 * ±3.4b	29.9 * ±1.5a
平均 Average	24.5±5.0ab	27.3±10.0b	27.4±4.4a	20.3±2.8c	20.7±6.7b	25.7±7.4bc	17.9±7.8c	36.1±9.1a	23.5±3.4ab	29.9±1.5b

表 3　不同强度刈割对黑麦草叶片过氧化物酶(POD)活力的影响/(μgH_2O_2 g^{-1}FW min^{-1})

Table 3　The effect of different cutting intensities on POD activity in the leaves of *Lolium perenne* L.

部位 Section	对照 CK		轻度刈割 LC		中度刈割 MC		重度刈割 SC		全部刈割 WC	
	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d
顶部 Top	4.6±0.6b	6.5±0.3b	8.9 * ±1.2a	8.2 * ±0.9a						
中上部 Upper part	6.4±1.2b	7.4±0.9b	6.7±0.4ab	8.4±0.4a	7.3 * ±0.4a	5.5 * ±0.2c				
中下部 lower part	7.9±0.5ab	7.2±0.5b	8.5±0.6a	9.1±0.3a	7.3±0.3b	6.7±0.4b	6.9 * ±0.3c	4.2 * ±0.2c		
基部 Base	9.4±0.1b	7.5±0.8c	9.1±0.2b	11.3±0.5a	10.4±0.7a	8.3±0.7b	8.7±0.9b	5.5±0.4d	9.3 * ±0.8b	4.5 * ±0.2e
平均 Average	7.1±2.0c	7.1±0.5b	8.4±1.1b	9.2±1.4a	8.9±1.8a	6.8±1.4b	7.8±1.3bc	4.9±0.9c	9.3±0.8a	4.5±0.2c

黑麦草 CAT 活力从叶片基部到顶端依次上升,叶片顶部 CAT 活力最高(表 4)。与对照相比,刈割处理 6 d 黑麦草叶片平均 CAT 活力降低,中度、重度、全割处理分别降低 13.6%、23.9%、23.9%。刈割处理 12 d,不同刈割处理下叶片平均 CAT 活力小幅度增高,轻度、中度、重度、全刈割处理叶片平均 CAT 活力分别增加 13.3%、15.7%、20.2%和 23.4%。不同刈割处理中叶片顶部再生叶 CAT 活力均最高。刈割部位顶部再生叶片的酶活力变化与叶片平均酶活力变化相同。不同刈割处理 6 d 再生叶中 CAT 活力与对照相同,两者差异不显著($P>0.05$)。处理 12 d,不同刈割处理下再生叶叶片 CAT 活力均增高,轻度、中度、重度、全割叶片 CAT 活力分别增加 6.8%、40.2%、39.8%和 18.9%,并与对照差异显著($P < 0.05$)。

表 4　不同强度刈割对黑麦草叶片过氧化氢酶(CAT)活力的影响/(μgH_2O_2 g^{-1}FW min^{-1})

Table 4　The effect of different cutting intensities on CAT activity in the leaves of *Lolium perenne* L.

部位 Section	对照 CK		轻度刈割 LC		中度刈割 MC		重度刈割 SC		全部刈割 WC	
	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d
顶部 Top	447.5±9.0a	339.5±19.3b	449.6 * ±13.5a	362.6 * ±2.3a						
中上部 Upper part	462.0±9.2a	288.2±4.4b	401.8±2.1b	303.5±4.7b	385.7 * ±2.9c	404.0 * ±3.7a				
中下部 lower part	386.5±10.4b	247.3±6.6c	372.8±10.7c	310.1±2.5b	427.5±7.0a	334.8±4.7a	393.3 * ±43.9b	345.8 * ±3.0a		
基部 Base	341.7±7.0b	306.8±4.7b	427.3±18.2a	362.6±6.4a	268.1±5.8c	312.4±4.0c	267.7±43.6c	364.3±5.9a	330.4 * ±4.8b	364.7 * ±6.8a
平均 Average	409.4±15.8a	295.5±38.3bc	412.9±33.1a	334.7±32.3b	360.5±82.6b	350.4±47.7a	330.5±88.8b	355.05±13.1a	330.4±4.8b	364.7±6.8a

2.4　不同强度刈割下黑麦草残留叶片和再生叶片渗透调节物含量比较

黑麦草可溶性糖含量集中在叶片中部,在叶顶部和基部较低(表 5)。刈割 6 d 与对照相比,黑麦草叶片平均可溶性糖含量随着刈割强度增加而趋于下降,其中轻度、中度、重度、全部刈割处理叶片可溶性糖分别降低了 22.2%、22.2%、57.1%、46.7%。刈割 12 d 后,不同刈割强度的黑麦草平均可溶性糖含量变化如刈割 6 d,但下降幅度较 6 d 大。不同刈割强度下顶部再生叶中可溶性糖含量趋于下降,其中中度、重度、全部刈割处理

6 d 叶片可溶性糖含量分别下降 30.8%、30.4%、25%；刈割 12 d 分别降低了 16.7%、110.3%、43.5%、45.5%。不同强度刈割均使叶片可溶性糖含量下降，并与对照差异显著($P < 0.05$)。

表 5 不同强度刈割对黑麦草叶片可溶性糖含量的影响/(μg/gFW)

Table 5 The effect of different cutting intensities on soluble sugar contents in the leaves of *Lolium perenne* L.

部位 Section	对照 CK		轻度刈割 LC		中度刈割 MC		重度刈割 SC		全部刈割 WC	
	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d
顶部 Top	2.0±0.3a	1.8±0.1a	2.0*±0.1a	1.5*±0.2b						
中上部 Upper part	2.6±0.2a	2.3±0.1a	2.0±0.3b	1.4±0.1b	1.8*±0.1b	1.2*±0.2c				
中下部 lower part	2.3±0.2a	2.3±0.1a	1.8±0.2b	1.2±0.1b	2.2±0.2a	1.0±0.2b	1.6*±0.4b	1.3*±0.2b		
基部 Base	2.0±0.1a	2.2±0.5a	1.5±0.2b	1.6±0.2b	1.5±0.2b	1.0±0.1e	1.1±0.1c	1.3±0.1c	1.5*±0.1b	1.2*±0.1d
平均 Average	2.3±0.3a	2.2±0.2a	1.8±0.2b	1.4±0.2b	1.8±0.3b	1.1±0.1d	1.4±0.4c	1.3±0.1b	1.5±0.1c	1.2±0.1d

黑麦草叶片脯氨酸含量集中在叶片中上部，下部含量较低(表 6)。与对照相比，不同强度刈割 6 d 黑麦草叶片平均脯氨酸含量降低。轻度刈割降低较少，中度、重度、全部刈割叶片中脯氨酸分别降低 10.1%、21.5%、14.5%。刈割 12 d，经过一段时间的生长叶片中脯氨酸出现增长趋势，其中中度、重度、全部刈割下叶片脯氨酸含量分别增加 24.5%、23.5%和 14.2%。不同强度刈割处理 6 d，顶部再生叶中脯氨酸含量与对照相近，两者差异不显著。但处理 12 d 后，再生叶中脯氨酸含量增加明显，中度、重度、全割处理下分别增高 37.2%、29.6%、43.8%，并与对照差异显著($P < 0.05$)。

表 6 不同强度刈割对黑麦草叶片脯氨酸含量的影响/(μg/g FW)

Table 6 The effect of different cutting intensities on proline contents in the leaves of *Lolium perenne* L.

部位 Section	对照 CK		轻度刈割 LC		中度刈割 MC		重度刈割 SC		全部刈割 WC	
	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d	6 d	12 d
顶部 Top	20.1±1.2a	27.9±3.5a	23.3*±2.0a	25.5*±0.6a						
中上部 Upper part	26.1±3.1a	19.7±0.3b	20.9±3.5b	17.9±0.8b	19.5*±2.3b	31.3*±0.6a				
中下部 lower part	17.5±1.4b	20.7±0.2c	17.2±0.7b	19.8±1.0c	19.6±1.0a	24.9±0.0b	18.2*±0.8ab	29.4*±0.6a		
基部 Base	18.1±1.6a	13.1±0.5b	19.1±2.7a	20.2±0.2a	15.0±2.3b	20.1±0.4a	13.2±0.7b	21.1±1.0a	17.1*±0.7a	23.3*±0.0a
平均 Average	20.5±3.9a	20.4±6.0b	20.1±2.6a	20.8±3.2b	18.0±2.6a	25.4±5.6a	15.7±3.5b	25.2±5.8a	17.1±0.7ab	23.3±0.0a

3 讨论与结论

牧草耐刈性在畜牧业发展、园林建设中起重要作用。刈割促使牧草补偿性生长是牧草持续生存、耐践、耐刈、耐牧的关键。但目前尚不清楚维护刈割后牧草补偿性生长的生理保护调控机理。

对不同刈割处理后叶片不同部位抗逆生理指标的测定结果表明，正常情况下没有刈割的对照黑麦草叶片各部位抗氧化酶和渗透调节物含量不同(表 1—6)。其中，叶片顶部膜脂过氧化程度较高，伴随着较高的 SOD、CAT 活力和脯氨酸含量；与其相比，叶片中部 MDA 含量，SOD、CAT 活力，及脯氨酸含量均降低；叶片基部，膜脂过氧化程度最低，与其相一致的是叶片 SOD、CAT 活力及脯氨酸含量也较低。在正常生长过程中，叶片各部位膜脂过氧化水平和抗氧化酶活力之间呈明显正相关，并与其叶片各部位所处环境相关。黑麦草为直立条形叶片，其顶部光照强、气温高，导致叶片气孔蒸腾作用强，水分丢失快。一方面缺水诱发氧自由基的积累引发膜脂过氧化，同时积累的氧自由基可激活抗氧化酶系统使抗氧化酶活力提高[13]，另一方面缺水引发脯氨酸大量积累[23]。因此叶片顶部较高的抗氧化酶活力和较高的脯氨酸含量可有效地维护氧自由基代谢平衡和水分平衡，而在维持叶片顶部生存中起重要作用；与叶片顶部相比，叶片中部位于种群密度较高，光照较弱，气温低，叶片缺水程度较叶片顶部小，故而叶片中部处于较适宜的环境，叶片氧自由基产生和清除速率达到平衡[13,24]，导致膜脂过氧化程度低、抗氧化酶活力也较低；而叶片基部位于种群底部，这里阴暗，潮湿，但由于叶片老化，光合和呼吸代谢强度弱，氧自由基积累少，故细胞膜脂过氧化程度小，MDA 含量低，抗氧化酶活力低，

脯氨酸积累少。

本研究发现,不同强度刈割下植株补偿性生长速率不同。轻度和中度刈割的黑麦草补偿性生长明显,重度刈割表现不明显,而全割处理补偿性生长最明显(图 1)。导致这一结果的原因可能是,轻度、中度、重度刈割是分别剪除了叶片的顶部、中上部、中下部部分。在刈割后牧草恢复生长中,轻度和中度刈割的牧草主要依赖于叶片中上部和中下部。而黑麦草叶片中部常处于种群相对适宜的环境,是生长较快的部位。因而在刈割后残留叶片的中上部和中下部光合速率快速提高[25],生长速率增高而使轻度和中度刈割补偿性生长明显。而重度刈割后叶片的生长依赖于叶片基部的老叶,基部老叶光合作用和生命力均较弱[6],因而重度刈割后基部老叶光合作用积累的能量不足以弥补呼吸消耗,生长速率降低,使重度刈割在短时间内叶片无补偿性生长。而全割处理清除了地上全部叶片,牧草再生只能依赖黑麦草茎基部、根颈和根系中的贮藏物质(如碳水化合物和含氮物质),这些物质在牧草再生启动和初期生长中发挥重要作用[26-27]。与其他刈割相比,全割处理为牧草的生长提供了开阔的空间、可流动的空气、强的太阳辐射,这为新叶生长提供了有利用的环境条件。另外全割后地下根养分向上运输距离短、速度快,加之地上没有了基部老叶的呼吸消耗,使根中全部营养可用于新叶生长,这为新叶生长创造了物质条件。因此,全割引发黑麦草快速将根中养分向上运输,促使新叶片生长和尽早恢复植株光合作用能力和能量输入能力,因而新叶快速生长导致补偿性生长明显。但过度频繁全割会导致根部营养输出大于输入甚至造成植物死亡。可见,刈割减少光合叶面积降低了能量合成能力导致植株能量代谢失衡是引发残留叶片补偿性生长的诱因,而残留叶片补偿性生长速率与其光合作用恢复速率密切相关[5-6,10]。因此,在维护草地持续生长中轻度和中度刈割为适度刈割,频繁全割将毁坏草地,不宜采用。

此外,本研究结果还表明,不同程度刈割短时间内(6 d)黑麦草叶片再生部分和叶片平均 MDA 含量,SOD 和 CAT 活力,可溶性糖和脯氨酸含量均低于对照(表 1—6),而不同程度刈割长时间内(12 d),黑麦草叶片再生部分和叶片平均 MDA 含量较对照低,但 SOD 和 CAT 活力增高,脯氨酸含量增加并高于对照。一方面不同程度刈割短时间内(6 d)和长时间内(12 d)黑麦草叶片再生部分和叶片平均 MDA 含量均较对照低。这表明,刈割后牧草补偿生长与细胞维持较低膜脂过氧化水平有关。许多研究发现,在正常和胁迫条件下抗逆性强的野生甜菜[14]和耐盐的无芒虎尾草[28]体内 MDA 含量明显较低。沙漠环境生长的猪毛菜和差巴嘎蒿日间叶片 MDA 含量均较低[16]。生活在温差较小、环境潮湿的地下根,其根中 MDA 含量也较低[29]。逆境条件下,细胞内 MDA 含量与植物存活和抗逆性呈负相关[30]。本研究表明,虽然刈割对黑麦草叶片造成了机械伤害,但刈割并未使受伤部位细胞膜脂过氧化程度加剧。细胞中较低的膜脂过氧化程度预示着细胞内氧自由基代谢趋于平衡有关[24,28]。因此刈割后细胞能维持氧自由基代谢平衡可能是其受伤部位快速自愈、整个叶片快速进行补偿性生长的重要生理保障。另一方面研究表明,刈割后黑麦草残留叶片低的膜脂过氧化水平与抗氧化保护酶活力和渗透调节物含量相关,抗氧化酶和渗透调节物与抑制膜脂过氧化及黑麦草补偿性生长相关。其原因可能是,其一,刈割使植物光合作用叶面积迅速减少,导致叶片能量收支平衡失衡,可能快速刺激残留叶片的快速生长以补偿刈割造成的能量损失,从而启动了植物的补偿性生长[31-32]。Belsky[33]认为补偿性生长是植物受伤害之后的一种积极反应。其二,刈割引发黑麦草补偿性生长依赖于植物光合作用生产的光合产物[10]。有研究发现,羊草[25]、黑麦草[34]、紫花苜蓿[8]在刈割后残留叶片光合速率较没有刈割的高,刈割后光环境的改善提高了叶片对光的转化,使植物光合作用能力提高[34]。因此刈割后残留叶片光合速率增加和植物光合补偿能力的提高是植物补偿生长的关键[6]。其三,由于光合和呼吸过程引发氧自由基积累[35],因此刈割后牧草叶片光合速率(Pn)的提高[6-7],可引发细胞氧自由基积累。同时抗氧化酶是诱导酶[13],因而光合作用过程中积累的氧自由基又激活了抗氧化酶保护系统使 SOD 和 CAT 活力提高抑制膜脂过氧化。这可能是刈割 12 d 叶片 MDA 含量低,而 SOD 和 CAT 活力高的原因。抗氧化酶通过快速清除氧自由基,抑制氧自由基积累维护氧自由基代谢平衡而维护着残留叶片的生长。例如,全割处理下,虽然根中储备营养可为新叶生长提供物质基础,但在新叶生长过程中叶中维持较高的 SOD 和 CAT 活力(表 2,表 4)和脯氨酸含量(表 6),维持较低的 MDA 含量(表 1)。新生叶较强的抗膜脂过氧化能力和保持水分的能力可能是黑麦草不惧全割的原因。

由于生命是自由基产生与抗氧化作用间的平衡[36]。因此在刈割机械伤害下,残留叶片快速提高抗氧化酶活力及时清除光合代谢中产生的氧自由基,使细胞中氧自由基产生和清除处于平衡状态,这在黑麦草刈割后残留叶片快速进行补偿性生长中起重要生理保护作用。其四,刈割使叶片产生伤口,导致叶片水分丢失,缺水可能引发残留叶片脯氨酸含量增加[16]。其脯氨酸亲水性极强,能稳定原生质胶体及组织内的代谢过程,有防止细胞脱水的作用,而在残茬叶片快速补偿性生长中是重要的水分稳定剂[23]。研究表明,虽然不同强度刈割下叶片补偿性生长速率不同,但不同强度刈割均可激活残留叶片抗氧化保护酶系统和促进渗透调节物的积累。在补偿生长过程中,CAT 和 SOD 能及时清除残留叶片中积累的氧自由基,抑制膜脂过氧化、维护氧自由基代谢平衡,积累的脯氨酸能维护细胞水分平衡,而使它们在黑麦草补偿生长中起重要生理保护作用。

综上所述,不同强度刈割后黑麦草叶片补偿性生长速率差异显著,轻度和中度刈割后残留叶片为生活力强的叶片中部,叶片补偿性生长明显,重度刈割后残留叶片为生活力弱的基部老叶,叶片补偿性生长不明显。因此,刈割减少光合叶面积降低能量收入导致植株能量失衡是引发补偿性生长的诱因,而补偿性生长的速率与残留叶片生活力成正相关。然而,不同强度刈割后,残留叶片 SOD 和 CAT 活力及脯氨酸含量增高,而 MDA 含量一直维持较低水平。可见,不同强度刈割均可激活残留叶片抗氧化保护酶系统和促进渗透调节物的积累。在补偿生长过程中,CAT 和 SOD 能及时清除残留叶片积累的氧自由基,抑制膜脂过氧化、维护氧自由基代谢平衡、保护细胞膜完整性,积累的脯氨酸能维护细胞水分平衡。因而抗氧化酶和渗透调节物在黑麦草刈割后维护细胞较低的膜脂过氧化水平和其快速补偿生长中起重要生理保护作用。

参考文献(References):

[1] 黄登峰, 姬承东, 赵运林. 草坪草耐践踏性研究进展. 安徽农业科学, 2008, 36(8): 3216-3218.

[2] 侯扶江, 常生华, 于应文, 林慧龙. 放牧家畜的践踏作用研究评述. 生态学报, 2004, 24(4): 784-789.

[3] 马雪梅, 罗赣丰, 李德荣, 金雄, 程建峰. 践踏胁迫对沟叶结缕草坪用性状的影响及其自然恢复能力. 草业学报, 2014, 23(3): 343-349.

[4] Belsky A J, Carson W P, Jensen C L, Fox G A. Overcompensation by plants: Herbivore optimization or red herring? Evolutionary Ecology, 1993, 7(1): 109-121.

[5] 王丽华, 付秀琴, 王金牛, 刘尉, 吴彦, 干友民. 不同光环境下刈割对黑麦草补偿性生长及叶片氮含量的影响. 应用与环境生物学报, 2015, 21(2): 287-294.

[6] 梁志霞, 杜虎, 彭晚霞, 曾馥平, 杨钙仁, 谭秋锦, 宋同清. 氮肥、刈割强度对桂牧 1 号杂交象草光合特性的影响. 草业学报, 2013, 22(4): 319-326.

[7] 王楠楠, 皇甫超河, 陈冬青, 张天瑞, 姜娜, 屠臣阳, 李玉浸, 杨殿林. 刈割对外来入侵植物黄顶菊的生长、气体交换和荧光的影响. 生态学报, 2012, 32(9): 2943-2952.

[8] 何树斌, 刘国利, 杨惠敏. 不同水分处理下紫花苜蓿刈割后残茬的光合变化及其机制. 草业学报, 2009, 18(6): 192-197.

[9] 丁成龙, 顾洪如, 许能祥, 程云辉. 不同刈割期对多花黑麦草饲草产量及品质的影响. 草业学报, 2011, 20(6): 186-194.

[10] Nowak R S, Caldwell M M. A test of compensatory photosynthesis in the field: implications for herbivory tolerance. Oecologia, 1984, 61(3): 311-318.

[11] 王志锋, 王多伽, 于洪柱, 金春花, 齐宝林, 郑长月, 张营超. 刈割时间与留茬高度对羊草草甸草产量和品质的影响. 草业科学, 2016, 33(2): 276-282.

[12] 李轶冰, 杨顺强, 任广鑫, 冯永忠, 张强, 李鹏. 低温处理下不同禾本科牧草的生理变化及其抗寒性比较. 生态学报, 2009, 29(3): 1341-1347.

[13] Smirnoff N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 1993, 125(1): 27-58.

[14] Bor M, Özdemit F, Türkan I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science, 2003, 164(1): 77-84.

[15] Zhou R L, Zhao H L. 2004. Seasonal pattern of antioxidant enzyme system in the roots of perennial forage grasses grown in alpine habitat, related to freezing tolerance. Physiologia Plantarum, 2004, 121(3): 399-408.

[16] 周瑞莲, 解卫海, 侯玉平, 王艳芳, 黄清荣. 东北沙地 7 种植物高温时段的生理适应对策. 林业科学, 2014, 50(6): 74-81.

[17] Gonzalez B, Boucaud J, Salette J, Langlois J, Duyme M. Changes in stubble carbohydrate content during regrowth of defoliated perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) on two nitrogen levels. Grass and forage Science, 1989, 44(4): 411-415.

[18] Donaghy D J, Fulkerson W J. The importance of water-soluble carbohydrate reserves on regrowth and root growth of *Lolium perenne*(L.). Grass and Forage Science, 1997, 52(4): 401-407.

[19] 干友民, Schnyder H, Vianden H, Schaeuf R. 多年生黑麦草刈后再生草碳水化合物及氮素的变化. 草业学报, 1999, 8(4): 65-70.

[20] 张志良, 瞿伟菁. 2003. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社.

[21] Sundar D, Perianayaguy B, Reddy A R. Localization of antioxidant enzymes in the cellular compartments of sorghum leaves. Plant Growth Regulation, 2004, 44(2): 157-163.

[22] Drazkiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z. Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis* thaliana. Biometals, 2004, 17(4): 379-387.

[23] Szabados L, Savouré A. Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science, 2010, 15(2): 89-97.

[24] Zhang J X, Kirkham M B. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. Plant and Cell Physiology, 1994, 35(5): 785-791.

[25] 杜占池, 杨宗贵. 刈割对羊草光合特性影响的研究. 植物生态学与地植物学学报, 1989, 13(4): 317-324.

[26] Meuriot F, Avice J C, Simon J C, Laine P, Decau M L, Ourry A. Influence of initial organic N reserves and residual leaf area on growth, N uptake, N partitioning and N storage in alfalfa(Medicago sativa) during post-cutting regrowth. Annals of Botany, 2004, 94(2): 311-321.

[27] Dhont C, Castonguay Y, Nadeau P, Bélanger G, Chalifour F P. Alfalfa root nitrogen reserves and regrowth potential in response to fall harvests. Crop Science, 2003, 43(1): 181-194.

[28] Luna C, Garcia-Seffino L, Arias C, Taleisnik E. Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance. Plant Breeding, 2000, 119(4): 341-345.

[29] 周瑞莲, 赵彦宏, 杨润亚, 左进城, 候月立, 周彬彬. 海滨滨麦叶片和根对不同厚度沙埋的生理响应差异分析. 生态学报, 2015, 35(21): 7080-7088.

[30] Cavalcanti F R, Oliveira J T A, Martins-Miranda A S, Viégas R A, Silveira J A G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. New Phytologist, 2004, 163(3): 563-571.

[31] 张荣, 杜国祯. 放牧草地群落的冗余与补偿. 草业学报, 1998, 7(4): 13-19.

[32] 马红彬, 余治家. 放牧草地植物补偿效应的研究进展. 农业科学研究, 2006, 27(1): 63-67.

[33] Belsky A J. Does herbivory benefit plants? A review of the evidence. The American Naturalist, 1986, 127(6): 870-892.

[34] 周晓红, 王国祥, 杨飞, 陈秋敏, 汪丽. 刈割对生态浮床植物黑麦草光合作用及其对氮磷等净化效果的影响. 环境科学, 2008, 29(12): 3393-3399.

[35] Kornyeyev D, Logan B A, Allen R D, Holaday A S. Effect of chloroplastic overproduction of ascorbate peroxidase on photosynthesis and photoprotection in cotton leaves subjected to low temperature photoinhibition. Plant Science, 2003, 165(5): 1033-1041.

[36] Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. Plant Physiology, 2006, 141(2): 312-322.